

КАЛЛОЗА И РАЗВИТИЕ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА ПЕТУНИИ (*PETUNIA HYBRIDA* L.)

И. А. Мужиченко

Институт физиологии растений имени К. А. Тимирязева РАН, Москва

knopo4ka_dream@mail.ru

Развитие пыльцы, мужской гаметофитной генерации, в жизненном цикле высших растений, полностью зависит от спорофитных тканей пыльника [3]. На первом этапе происходит дифференциация клеток и тканей пыльника, материнские клетки микроспор проходят мейоз и к концу этого периода пыльник содержит наибольшее количество специализированных клеток и тканей, а также тетрады микроспор. На втором этапе происходит дифференциация гаметофитной генерации, дегидратация и высвобождение пыльцевых зерен. До сих пор клеточные процессы, которые регулируют дифференциацию клеток пыльника, полностью не изучены. Один из таких процессов — регуляторные механизмы формирования и разрушения каллозы в процессе микроспорогенеза.

Каллоза — полисахарид, состоящий из α -1,3-глюканов — начинает откладываться в начале мейоза вокруг микроспороцитов между плазмалеммой и первичной целлюлозной стенкой, образуя, в конечном итоге, сплошной слой. В образовании каллозы принимают участие диктиосомы, эндоплазматический ретикулум и липиды. Отложение каллозы продолжается во время прохождения мейоза, в результате тетрады микроспор окружаются каллозой. После завершения мейоза и инициации формирования экзины микроспоры каллозная оболочка растворяется каллазой, секретируемой тапетумом α -1,3-глюканазой [4], высвобождая свободные микроспоры в локулы. В ходе созревания пыльцы тапетум начинает дегенерировать, обеспечивая материалами формирование оболочки пыльцевого зерна. У *Arabidopsis*, *Brassica napus* и риса идентифицированы гены, экспрессирующиеся в развивающемся пыльнике, включая гены, связанные с инициацией мейоза, при этом выделены транскриптомы и пыльцы, и тапетума [2]. Мужская стерильность у петунии с ЦМС обусловлена, как полагают, с преждевременным растворением каллозной стенки, окружающей микроспорогенные клетки.

Объектом исследования стали пыльники и мужской гаметофит двух клонов петунии: фертильного (развитие мужского гаметофита и процессы

само- и перекрестного опыления завершаются оплодотворением и завязыванием семян) и стерильного (развитие мужского гаметофита останавливается в процессе мейоза [1].

На первом этапе исследования проводится анализ локализации каллозы в развивающихся пыльниках на девяти стадиях развития фертильного мужского гаметофита петунии, согласно Добровольской и др. (2009). Наиболее благоприятным для сохранения материала оказался способ фиксации по Бродскому (формалин:спирт:ледяная уксусная кислота, 3 : 1 : 0,3, ФСУ). Затем проводили обезвоживание и парафинирование материала. Парафиновые блоки резали на санном микротоме МС-2, полученные срезы (толщина — 5 мк) наклеивали на подготовленные стекла. После очистки стекол О-ксилолом от парафина срезы окрашивали в течение 30 мин. 0,005 %-м раствором водорастворимого анилинового синего в 0,15 М растворе K_2HPO_4 (рН 8,2).

В настоящее время проводится анализ полученного материала на флуоресцентном микроскопе Axio Imedger D1.

Литература

1. Добровольская А. А., Родионова Г. Б., Воронков А. С., Ковалева Л. В. Спорофитно-гаметофитные взаимодействия в системе пыльник-мужской гаметофит у петунии // Физиология растений. 2009. Т. № 3, No. 3. С. 437–444.
2. Aya K., Suzuki G., Suwabe K., Hobo T. et al. Comprehensive Network Analysis of Anther-Expressed Genes in Rice by the Combination of 33 Laser Microdissection and 143 Spatiotemporal Microarrays // PLoS. 2011. 6(10):e26162. doi: 10.1371/journal.pone.0026162.
3. Scott R. J., Spielman M., Dickinson H. G. Stamen structure and function // Plant Cell. 2004. V. 16. P. 46–60.
4. Steiglitz H. Role of α -1,3-glucanase in postmeiotic microspore release // Dev. Biol. 1977. V. 57. P. 87–97.

CALLOSE AND PETUNIA MALE GAMETOPHYTE DEVELOPMENT

Muzhichenko I. A.

Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences, Moscow

Summary. Callose formation and degradation in developmental anthers is under investigation on two petunia clones (self-compatible and sterile).